Über das Verhalten einiger neutraler Saponinsubstanzen zu isolierten Körperzellen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Albert Schreuder

aus **Landsberg** (Warthe).

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Rostock.

Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.

1914.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock.

Referent: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Kobert.

Meinem Vater.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553613_0113

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Über Saponine im allgemeinen 7

II. Eigene Versuche mit Sapindus-Saponin der Firma Hoffmann-La Roche an Blut, Gehirnzellen und weißen Blutkörperchen 11

III. Eigene Versuche mit Sapindus-Saponin an anderen Zellarten 33

IV. Eigene Versuche über das Verhalten des Saponin Sthamer aus der Quillajarinde zu Körperzellen . 45

V. Eigene Versuche über die Einwirkung des Saponalbins auf isolierte Organzellen 51

VI. Eigene Versuche über die Einwirkung der Assamteesamen auf isolierte Organzellen 55

VII. Eigene Versuche über das Verhalten des Senegins zu isolierten Organzellen 59

Hauptergebnisse 61

Kapitel I.

Über Saponine im allgemeinen.

Es soll hier nicht meine Aufgabe sein, erschöpfend über das sehr große Kapitel der Saponinsubstanzen zu berichten; aber ich muß doch soweit auf die Definition und das Wesen der Wirkung dieser Stoffe hier eingehen, als zum Verständnis meiner eigenen Versuche nötig ist.

Die Literatur dieser Substanzen ist vor kurzem von Kobert in dem biochemischen Handlexikon, herausgegeben von Abderhalden, erschöpfend zusammengestellt worden. Ich verweise auf diese Schrift vor allen Dingen, namentlich was die chemische Seite der Frage anlangt.

Was die medizinische und pharmakologische Seite der Frage anlangt, so findet sich von demselben Autor in dem vor kurzem erschienenen letzten Bande der 4. Auflage von Eulenburgs Realencyklopädie der gesammelten Heilkunde eine Zusammenfassung. Aus dieser erlaube ich mir die Definition der Saponinsubstanzen, soweit sie uns interessiert, wiederzugeben:

Unter Saponinsubstanzen verstehen wir optisch aktive, stickstoffreie Glykoside, die in nichtsauren, wässrigen Lösungen stark schäumen. Dieser Fähigkeit verdanken sie ihren Namen „Saponine", d. h. pflanzliche Seifenstoffe. Sie finden sich im Tier- und Pflanzenreich. Im Tierreich hat sie Faust im Gift gewisser Schlangen nachgewiesen. Im Pflanzenreich sind sie außerordentlich verbreitet. Nach Kobert finden sie

sich in nicht weniger als 60 Pflanzenfamilien, sowohl unter den Dikotylen wie Monokotylen und Gefäßkryptogamen. Besonders saponinhaltig sind die Familien der Sapotaceen, Sapindaceen und Silenaceen. Bei diesen Pflanzen sind unsere Glykoside in allen Teilen zu finden, sowohl in den Wurzeln, wie in den Knollen, Stengeln, Blättern etc. Aus ihrem häufigen Vorkommen in der Pflanzenwelt kann man schließen, daß ihnen eine hohe pflanzenphysiologische Bedeutung zukommt, wie von K o b e r t in der erwähnten Arbeit ausgeführt wird.

Wie schon oben bemerkt, sind die Saponinsubstanzen stickstoffrei. Ihre chemische Reaktion ist im allgemeinen neutral. Eine kleine Gruppe, zu der z. B. die Quillajasäure, die Guajaksaponinsäure, die Cereinsäure, die Melanthinsäure, die Strophanthinsäure, Agrostemmasäure etc. gehören, reagiert sauer.

Basisch reagiert allein das Solanin, oder genauer die Gruppe der Solanine, die in der Familie der Solanaceen häufig vorkommen und überdies als einzige Saponinsubstanzen stickstoffhaltig sind.

Im unreinen Zustande sind alle Saponine in Wasser, welches geringe Mengen freien oder kohlensauren Alkalis enthält, löslich. Von den sauren Saponinen sind einige in neutralem oder angesäuertem Wasser bei gewöhnlicher Temperatur völlig unlöslich.

Betreffs ihrer Darstellungsmethoden und Reaktionen sei auf das obengenannte Handlexikon verwiesen.

Am vollständigsten sind die Reaktionen angeführt bei S i e b u r g[1]).

Von der elementaren Zusammensetzung der Saponinsubstanzen ist zu sagen, daß man mehrere allgemeine Formeln aufgestellt und darnach die Saponine

[1]) E. S i e b u r g , Berichte d. deutsch. pharmazeut. Gesellschaft, Jahrg. 1913, Mai-Heft.

in Gruppen eingeteilt hat. Weitaus die meisten passen zu der Annäherungsformel: $C_n H_{2n-8} O_{10}$, so z. B. auch die erst vor wenigen Monaten gefundene Strophanthinsäure.

Mehr als diese rein chemischen Fragen interessiert uns bei meiner Arbeit die Wirkung der Saponinsubstanzen auf die Körperzellen.

Das allen giftigen Saponinsubstanzen Gemeinsame ist eine protoplasmareizende und in größeren Dosen protoplasmatötende Wirkung. Vorbedingung dazu ist, daß die Saponine am Protoplasma irgendwie verankert werden. Diese Verankerung können wir uns am besten physikalisch-chemisch durch Adsorption erklären. Die Saponine sind nämlich kolloide Stoffe, und wie viele kolloide Stoffe werden sie leicht adsorbiert. Auf dieses Stadium der physikalischen Adsorption folgt eine chemische Bindung an die Cholesterinsubstanz der Zellen. Seit Ransoms berühmten Versuchen (1891) wissen wir nämlich, daß Saponine mit Cholesterin, falls man beide im Reagenzglas in Lösung mit einander mischt, eine chemische Verbindung bilden. Später gelang es Windaus, diese Verbindung für einzelne Saponine in Kristallen darzustellen. Bei diesen ist sie also eine sehr feste, bei anderen hingegen eine nur ganz lockere.

Behandelt man nun isolierte Zellen von der Leber, des Gehirns, der Nieren etc. mit Saponinlösungen, so werden sie schnell bis zur Unkenntlichkeit umgewandelt. Am deutlichsten im Reagenzglase zu beobachten ist die Wirkung der Saponine auf rote Blutkörperchen. Setzt man frischen roten Blutkörperchen Saponinlösungen hinzu, so tritt je nach Konzentration der Lösung mehr oder weniger schnell eine Lackfärbung im Reagenzglase auf.

Tatsächlich lassen sich die Stromata auch nach erfolgter Hämolyse nachweisen, so daß diese Hämolyse,

genau genommen, keine wirkliche Hämolyse ist, sondern nur ein Austritt des Blutfarbstoffes.

Bei Zellen, die kein Hämoglobin enthalten, bleiben daher diese ebenfalls erhalten, nur werden sie zu unförmigen Klumpen.

Die Saponinhämolyse ist schon vor 25 Jahren von Kobert[1]) als bequemste und feinste Reagenz auf Saponinsubstanzen angegeben worden. Bei meinen Versuchen habe ich sie ausschließlich angewandt.

Der Vorgang der Verankerung der Saponine in gewissen Körperzellen ist nur ein Fall aus der großen Reihe der in den Körperzellen sich verankernden Arzneisubstanzen und Gifte. Nach der von Ehrlich ausgebauten Anschauung müssen alle Substanzen, die auf ein Organ wirken sollen, sich erst dank ihrer haptophoren Eigenschaften an den Zellen dieses Organes verankern. Erst dann können sie vermittels ihrer toxophoren Eigenschaften auf diese Zellen wirken.

Als Beispiel der Verankerung solcher Stoffe nenne ich die des Äthers und Chloroforms — erst in den Blutkörperchen, die dadurch sogar hämolysiert werden können. Alsdann erfolgt bei diesen Substanzen, falls sie nur in kleinen Mengen zugeführt sind, eine Verankerung in den Zellen des Gehirns und Rückenmarks, und zwar dadurch, daß sie sich in den Lipoiden dieser Zellen lösen.

Von Alkaloiden nenne ich z. B. das Morphin, das sich ebenfalls in den Zellen des Gehirns durch seine Lipoidlöslichkeit verankert.

Nun brauchen aber nicht alle Stoffe, die auf gewisse Organzellen wirken sollen, sich in diesen zu lösen; sie können auch mit diesen Zellen, resp. mit einzelnen

---

[1]) R. Kobert, Arch. der exp. Pathol. u. Pharmak., Bd. 23, 1887.

chemischen Bestandteilen der Zellen wasser- und fettunlösliche Verbindungen bilden.

In diese Gruppe gehören z. B. die sämtlichen Toxine, und von pflanzlichen Stoffen die sogenannten Hämagglutinen, d. h. Abrin, Ricin, Crotin und die große Reihe der Phasine. Ich verweise betreffs der Hämagglutinine auf die sehr ausführlichen Mitteilungen, die soeben K o b e r t und mehrere seiner Mitarbeiter gemacht haben. Sie finden sich in zwei Schriften, betitelt: Beiträge zur Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine, Teil I und II, Berlin 1913, Verlag von Paul Parey.

Die Ähnlichkeit der Saponinsubstanzen mit den Hämagglutininen ist schon oft hervorgehoben worden. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß sowohl Saponine wie Hämagglutinine mit sehr vielen Organzellen sich verbinden können, z. B. mit denen des Gehirns, der Leber, der Niere etc. Beide bilden dabei unlösliche Verbindungen. Für die Saponine dies nachzuweisen, ist Aufgabe der nachstehenden Arbeit.

K a p i t e l II.

Eigene Versuche mit Sapindus-Saponin der Firma Hoffmann-La Roche an Blut, an Gehirnzellen und weißen Blutkörperchen.

Die Gattung Sapindus umfaßt sehr viele Arten. Die bekannteste Art ist Sapindus Saponaria, die Seifennuß, welche aus Südamerika stammt und dort seit alten Zeiten von den Eingeborenen als Waschmittel benutzt worden ist. Das Saponin sitzt in den kirschenähnlichen Früchten und zwar lediglich im Fruchtfleisch, während die Kerne von Saponin ganz frei sind.

Da die Kolonien Deutschlands und anderer Kulturstaaten reichlich Sapindusbäume enthalten, wurden im

letzten Jahrzehnt von verschiedenen Spezies dieser Pflanze ganze Schiffsladungen der Früchte auf den Markt geworfen. An unser Institut wurde von verschiedenen Importeuren und chemischen Fabriken die Frage gerichtet, wie man diese Nüsse wohl am besten auf Saponin verarbeiten könne, und zu welchen technischen oder arzneilichen Zwecken dieses Saponin verwendbar ist.

Die erste pharmakologische Untersuchung dieser Droge hat N i k o l a i K r u s k a l im pharmakologischen Institute zu Dorpat angestellt. Sie findet sich in Band VI der Arbeiten des Institutes (Stuttgart 1891), auf den ich hiermit verweise.

Seitdem ist die Droge nach der chemischen Richtung hin mehrfach neu untersucht worden. Die Firma Hoffmann-La Roche in der Schweiz stellt große Mengen eines schneeweißen Pulvers aus Sapindusnüssen dar, welches als ziemlich reines Sapindus-Saponin angesehen werden kann. Dieses dient zu der ersten Reihe meiner Hauptversuche.

Ich stelle zunächst die Grenze der hämolytischen Kraft dieses Präparates in einem Nebenversuch fest:

Als Grundsubstanzen benutze ich dazu die 1 %ige Lösung meines Saponins „Roche" und eine 2 %ige Verdünnung frischen defibrinierten Rinderblutes mit physiol. Kochsalzlösung.

Nebenversuch:

a) 1 ccm Sapindus-Saponinlösung 1:100
+ 4 „ phys. NaCl-Lösung
+ 5 „ Rinderblut (2 %ig).

E r g e b n i s: Es tritt sofort die typische Lackfarbe im Reagenzglas auf, d. h. unser Saponinpräparat aus Sapindusnüssen wirkt auf eine 2 %ige Verdünnung von Rinderblut i n e i n e r K o n z e n t r a t i o n v o n 1:1000 s o f o r t h ä m o l y t i s c h.

Zum Vergleich stelle ich Kontrollversuche an, indem ich statt der Saponinlösung eine gleiche Menge von physiologischer Kochsalzlösung nehme. Hier tritt natürlich keine Hämolyse auf, d. h. nach einiger Zeit befindet sich oben im Glas eine farblose Schicht und unten ein Bodensatz von roten Blutkörperchen. Die Kontrolle gilt auch für die folgenden Versuche.

b) Ich verdünne die 1%ige Saponinlösung durch physiolog. Kochsalzlösung zu einer Konzentration von 1:1000.

1 ccm Sapindus-Saponin-Lösung 1:1000
+ 4 „ phys. NaCl-Lösung
+ 5 „ Rinderblut (2%ig).

Ergebnis: Es stellt sich wieder im Glas die Lackfarbe ein; also auch in einer Konzentration von 1:10000 wirkt das Saponin von Hoffmann-La Roche auf unser Rinderblut noch hämolytisch.

c) Ich verdünne die 1%ige Saponinlösung durch physiologische Kochsalzlösung zu einer Konzentration von 1:10000.

1 ccm Sapindus-Saponin-Lösung 1:10000
+ 4 „ phys. NaCl-Lösung
+ 5 „ Rinderblut (2%ig).

Ergebnis: Die Mischung im Reagenzglas bleibt trübe, und nach dem Absetzen steht oben eine farblose Schicht und unten ein Bodensatz von roten Blutkörperchen. Daraus folgt, daß das vorliegende Saponin der Sapindusnüsse in einer Konzentration von 1:100000 auf 2%iges Rinderblut nicht mehr hämolytisch wirkt.

d) Um die niedrigste Konzentration zu bestimmen, bei der unser Saponin „Roche“ noch hämolytisch wirkt, nehme ich es jetzt in einer Verdünnung von 1:50000

2 ccm Sapindus-Saponin-Lösung 1: 10 000
+ 3 „ phys. NaCl-Lösung
+ 5 „ Rinderblut (2 %ig).

Ergebnis: Auch diese Konzentration der Saponinlösung von 1:50 000 ist noch zu schwach, um Hämolyse hervorzubringen.

e) Ich gehe also noch etwas höher herauf in der Konzentration des Saponins.

3 ccm Saponin-Lösung 1: 10 000
+ 2 „ phys. NaCl-Lösung
+ 5 „ einprozentige Suspension von roten Blutkörperchen aus Rinderblut.

Ergebnis: Bei dieser Konzentration der Saponinlösung, also bei 1:30 000 hellt sich die Mischung nach 10 Minuten auf, d. h. es tritt rasch totale Hämolyse auf. Der Eintritt der Hämolyse bei einer Konzentration der Saponinlösung von 1 : 25 000 erfolgt etwas schneller als im vorhergehenden Versuch. Wurde statt roter Blutkörperchen defibriniertes Blut (2 %ig) genommen, so erfolgte die Hämolyse langsamer.

24 Stunden später: Die Gläschen, die die Saponinlösung in einer Konzentration von 1: 100 000 und 1: 50 000 enthalten, zeigten dasselbe Bild wie die Kontrolle, d. h. die roten Blutkörperchen liegen unverändert am Boden der Gläser. Von Hämolyse ist keine Spur vorhanden.

Endergebnis: Bei 2 %igem Rinderblut tritt die schädigende Wirkung unseres Saponins aus Fructus Sapindi Saponariae der Firma Hoffmann-La Roche auf die roten Blutkörperchen, d. h. die totale Auslösung des Blutfarbstoffs aus den Stromata, also die Hämolyse, gerade

noch bei einer Verdünnung von 1:30 000 ein.

Ich werde mir erlauben im Nachstehenden dies noch oft zu erwähnende Saponin kurz als Saponin „Roche" zu bezeichnen.

Bei den folgenden Hauptversuchen benutze ich stets die 1 %ige Lösung des Saponins „Roche" und lasse im Mindestfalle 1 ccm davon auf 10 ccm der zu untersuchenden Substanzen wirken. Ich bin also weit entfernt von der Grenze der hämolytischen Kraft meines Saponins und in dieser Beziehung vor negativen Resultaten gesichert.

Ich erforsche zunächst die Wirkung des vorliegenden Saponins auf ausgewaschene Hirnzellen vom Kaninchen. Zu diesem Zwecke werden die möglichst blutfrei gewonnenen Gehirne zweier Kaninchen zerrieben und mit 0,9 %iger Lösung von NaCl (physiolog. NaCl-Lösung) in Wasser durch Schütteln vermischt. Nach Entfernung der gröberen Partikelchen mittels Durchgießen durch engmaschige Gaze bekommen wir eine Flüssigkeit, in der das Verhältnis von Hirn und NaCl-Lösung unbekannt ist, und die daher nur nach dem Aussehen beurteilt wird. Sie wird so lange verdünnt, bis sie gerade wie Milch aussieht.

Eine filtrierte Probe dieser Flüssigkeit gibt deutliche Eiweißreaktion nach Eßbach, Heller und nach der Kochprobe. Der Filterrückstand besteht aus Zellbrei. Von Hämoglobin ist nichts vorhanden.

Versuch 1.

Ich fülle in 10 Reagenzgläschen je 5 ccm meiner milchartigen Flüssigkeit von Hirnzellensuspension des Kaninchens und versetze sie teils mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung (Glas 1, 3, 5, 7, 9), teils mit je 5 ccm der erwähnten 1 %igen Saponin-Lösung (2, 4, 6, 8, 10), dann schüttle ich, was ich auch bei allen ferneren Versuchen genau beobachte, die Gläschen gut durch.

Nach 24 Stunden: In den Reagenzgläsern mit Hirnzellen+Saponin-Lösung (2, 4, 6, 8, 10) ist der Bodensatz fast um das Doppelte voluminöser als der in den Gläsern mit Hirnzellen+NaCl-Lösung (1, 3, 5, 7, 9). Das Filtrat beider Glasreihen enthält überall gleich viel Eiweiß, da Pikrin-Zitronensäure überall einen gleich großen Niederschlag liefert.

Ergebnis: 50 mg Saponin der Seifennüsse in Form einer 1%igen Lösung zu Hirnzellenbrei zugesetzt, hatte folgende Wirkung:

1. Eine stärkere Auslaugung von Eiweiß aus den Hirnzellen, als Kochsalz sie bewirkt, hat das Saponin auch nicht hervorgebracht.

2. Umgekehrt wurde durch diesen Zusatz das Volumen der gewaschenen frischen Gehirnzellen vom Kaninchen um das Doppelte vermehrt.

Fortsetzung des Versuchs.

Ich hebere nun nach weiteren 24 Stunden und mehrmaligem Umschütteln von allen 10 Reagenzgläsern die Hälfte der oben befindlichen, ziemlich klaren Flüssigkeit gesondert ab, nachdem sich die Zellen wieder abgesetzt haben, und setze je 5 ccm beider Flüssigkeiten, die einerseits von Glas 1, 3, 5, 7, 9, andererseits von Glas 2, 4, 6, 8, 10 herrühren, nach Esbach an.

Nach 2×24 Stunden: In der Flüssigkeit, die von den saponinhaltigen Gläsern (2, 4, 6, 8, 10) genommen ist, ist wiederum bei Pikrinsäurezusatz ein geringerer Niederschlag als in den andern sichtbar.

Den Bodensatz der 10 Reagenzgläschen sammle ich und zwar den der Kontrollgläschen gesondert von dem der saponinhaltigen. Nach mehrfachem Waschen vergleiche ich beide unter dem Mikroskop. Die mikroskopische Untersuchung ergibt keinen auffallenden Unterschied zwischen dem Bodensatz der normal- und dem der saponinhaltigen Gläschen.

Ergebnis: Auch nach 24stündigem Stehen der Zellen unter Saponin ist die Eiweißauslaugung nicht größer als in den unter Kochsalz

stehenden Zellen. Mikroskopisch zeigen die Zelltrümmer beider Gläschenarten keinen Unterschied.

Versuch 2.

Ich fülle in 2 Gläsern je 5 ccm einer Mischung von phys. Kochsalzlösung und Leukocyten (aus der Thymus eines Kalbes gewonnen) und setze dem einen Glase 5 ccm phys. NaCl-Lösung, dem anderen 5 ccm der 1%igen Sapindus-Saponin-Lösung hinzu und schüttle gut durch.

Nach 24 Stunden: Auch hier ist der Bodensatz im Glas mit Leukocyten+Saponin-Lösung fast um das Doppelte voluminöser als im Glase mit Leukocyten+NaCl.

Ergebnis: Auch Thymusleukocyten des Kalbes werden nach Zusatz von Sapindussaponin an Volumen nicht geringer, sondern voluminöser.

Versuch 3.

Eiter aus einem tuberkulösen Abszeß aus der chirurgischen Klinik wird mit phys. Kochsalzlösung mehrmals gewaschen, um die mucinöse Flüssigkeit von den Körperchen zu trennen. Dann werden in 2 Gläschen je 5 ccm Körperchensuspension getan. Zu Nr 1 tue ich 10 ccm phys. NaCl-Lösung, zu Nr. 2 10 ccm 1 %ige Saponin-Lösung „Roche".

Nach 24 Stunden befindet sich in Glas Nr. 1 ein 1 cm höherer weißer Bodensatz; in Glas Nr. 2 ist seine Höhe doppelt so groß, nämlich 2 cm. Die Farbe ist wie in 1 weiß.

Ergebnis: Also auch bei tuberkulösem Eiter ist der Bodensatz unter der Einwirkung des Saponins der Seifennüsse viel größer als der der Kontrolle.

Diese beiden Versuche Nr. 1 wie 3 stimmen trotz des verschiedenen Materials mit dem ersten Versuch im Resultat darin überein, daß der Bodensatz vermehrt wird. Ob die Zelltrümmer vergrößert oder gelöste Eiweißstoffe unlöslich gemacht werden.

bleibt unentschieden; das Mikroskop gibt keine Entscheidung.

Diese schon rein äußerlich in so starkem Maße zum Ausdruck kommende Wirkung von Sapindus-Saponin auf Körperzellen beobachtete ich fast durchweg bei allen meinen Versuchen, wie wir noch sehen werden.

Versuch 4.

Völlig blutfreie, sehr fein suspendierte Gehirnzellen vom Kaninchen werden bis zur Milchähnlichkeit mit phys. NaCl-Lösung verdünnt und in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I enthält 5 ccm Brei + 15 ccm NaCl.

„ II „ 5 „ „ + 15 „ der 1%igen Lösung von Sapindus-Saponin „Roche".

Ergebnis: Schon nach 6 Stunden ist der Niederschlag in dem Saponin enthaltenden Glase etwa dreimal so hoch als der im Kontrollglas.

Nach 3×24 Stunden: Auch nach 3 tägigem, ruhigen Stehen ist dieser Unterschied, wenn er auch etwas geringer geworden ist, noch sehr deutlich wahrnehmbar.

Es muß also entweder eine Fällung des aus den Zellen ausgezogenen Cholesterins des löslichen Eiweißes erfolgt sein oder es muß mit den vom Saponin bespülten Hirnzellen eine physikalische Änderung im Sinne einer Quellung vor sich gegangen sein, oder es müssen sich Saponinmoleküle an das Zellprotoplasma angelagert haben und dadurch deren Volumen vermehrt worden sein.

Wie ich im ersten Kapitel nämlich bereits erwähnt habe, wissen wir seit den Versuchen von Ransom, daß Saponine mit den Cholesterinen der Körperzellen chemische Verbindungen bilden, die in Wasser unlöslich sind.

Um nun meine letztere Ansicht, daß es sich hier um einen derartigen chemischen Vorgang handelt, auf

ihre Richtigkeit zu prüfen, muß ich versuchen, die Verankerung unseres Saponins in den Körperzellen auf irgend eine Methode zu lösen. Bei der Wahl dieser Methode bin ich dem Vorgange von George Reid[1]) gefolgt. Ich ließ mich dabei von dem schon oben erwähnten Gedanken an die Ähnlichkeit zwischen den Agglutininen und den Saponinen leiten, d. h. ich entschloß mich zu versuchen, durch Einwirkung von Säuren, oder falls das keinen Erfolg hat, von Alkali die Saponine vom Niederschlag wieder frei zu machen und sie dann auszuziehen. Zum Nachweis der Saponinsubstanzen bediente ich mich, wie früher angegeben, der Saponinhämolyse von Blutkörperchen.

Fortsetzung des Versuches 4.

Die Zellen des saponinhaltigen Gläschens werden nach Abhebern der darüber stehenden, saponinhaltigen, mäßig klaren Flüssigkeit viele Male mit phys. NaCl-Lösung aufgeschüttelt und immer nach dem Absetzen durch Abhebern von der Flüssigkeit wieder befreit. Zuletzt wird der Zellbrei auf dem Filter so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine Saponinreaktion mehr gibt.

Nun wird der Zellbrei mit 2 Tropfen Salzsäure und 5 ccm NaCl verrieben und das Filtrat mit Soda neutralisiert und mit 5 ccm 2%igem Meerschweinchenblut versetzt. Es erfolgt selbst nach 26 Stunden keine Hämolyse.

Es ist also kein durch Salzsäure abspaltbares Saponin vorhanden. Dies ist ein tief greifender Unterschied gegenüber der Gruppe der Agglutinine (Rizin, Phasin der Bohnen, Robin etc.), die durch Salzsäure leicht frei gemacht werden können.

[1]) Beiträge zur Kenntnis der chemischen Natur und des biologischen Verhaltens des Ricins (Aus dem Institute für Pharmakologie u. physiolog. Chemie zu Rostock). Landwirtschaftl. Versuchsstationen, Bd. 82, 1913.

Die Salzsäure wird dann durch weiteres Waschen mit phys. NaCl den Zellen noch vollständig entzogen und der Zellbrei mit 3 Tropfen Natriumkarbonatlösung versetzt und mit 5 ccm phys. NaCl ausgezogen, nachdem das Alkali einige Zeit eingewirkt hat. Das Filtrat wird mit HCl neutralisiert und mit 5 ccm 2%igem Meerschweinchenblut versetzt.

Es erfolgt sofort Hämolyse.

5 weitere Auszüge des Filterrückstandes mit je 5 ccm phys. NaCl-Lösung geben nochmals schnelle Haemolyse von Meerschweinchenblut.

Hauptergebnis:

1. Gehirnzellen vom Kaninchen verankern eine gewisse Menge des Sapindus Saponin „Roche" so fest, daß es durch Waschen mit physiologischer NaCl-Lösung nicht entzogen werden kann.

2. Diese Verankerung ist mit einer sehr deutlichen Volumenvermehrung verbunden.

3. Die bei den Agglutininen anwendbare Zerlegung der Verbindung von Zelle und Gift durch Salzsäure gelingt hier nicht, da das Saponin sich offenbar nicht analog den Agglutininen verankert. Wohl aber wird bei diesem Waschen mit HCl haltiger NaCl-Lösung der letzte Rest etwa noch vorhandenen nicht verankerten Saponins natürlich ausgewaschen.

4. Behandeln der Zellen nach der sauren Auswaschung mit NaCl-Lösung + Soda macht das Saponin wieder frei. Mit dem so gewonnenen und dann neutralisierten Filtrate kann man typische rasche Saponinwirkung auf rote Blutkörperchen hervorrufen, und zwar nicht nur mit dem ersten Filtrate, sondern auch noch mit den nachfolgenden. Es sind also nicht nur Spuren, sondern merkbare Mengen von Saponin gebunden gewesen und jetzt in Lösung gegangen.

In meinen nächsten Versuchen Nr. 5—10 standen mir Hirnzellen vom Menschen zur Verfügung, die jedoch unter 3,6 %igem Formalin gehalten sind, um sie vor dem Verderben zu schützen. Diese Konservierung und Härtung der Hirnzellen wirkt nicht nur nicht störend bei den Versuchen, sondern brachte mir inbezug auf die technische Seite, d. h. inbezug auf das Filtrieren der Zellbreie, ganz erhebliche Erleichterung. Gerade an der Schwierigkeit, frische Zellen auf dem Filter zu waschen und dann auszuziehen, scheiterten, wie ich jetzt schon erwähnen will, so manche Versuche.

Bei den alkalischen Auszügen von den mit Formalin gehärteten Zellen muß man stets mehr Alkali anwenden als bei denen von frischen Zellen, da sich aus dem Formalin eine Säure (Ameisensäure) bildet, eine Tatsache, die neuerdings auch von anderer Seite beobachtet und eben auf das Formalin zurückgeführt wird. Ich wurde darauf besonders aufmerksam, als ich bei den Auswaschungen in den Versuchen quantitativ genauer arbeitete als bei Versuch 6 und Normalsäure und Normallauge in abgemessenen Mengen anwandte.

Versuch 5.

Hirnzellen vom Mensch durch exaktes Waschen mit hypotonischer Kochsalzlösung blutfrei gemacht und fein suspendiert, 4 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten. Durch sorgfältiges Waschen mit phys. NaCl-Lösung entferne ich das Formalin und setze 3 Gläschen an.

Nr. I u. II enthalten: 5 ccm Hirnbrei + 10 ccm NaCl-Lösung + 3 ccm der 1 %igen Lösung von Saponin-Lösung „Roche".

Nr. III enthält statt Saponin-Lösung nur NaCl-Lösung.

Nach 12stündigem Stehen ist auch hier der Bodensatz in den beiden Saponin enthaltenden Gläschen Nr. I u. II bedeutend voluminöser als der im Kontrollgläschen I, das nur NaCl enthält, obwohl die 3 Gläschen vor dem Zusetzen von Saponin in II u. III genau gleich voluminösen

Bodensatz zeigten. Ich hebere nun die überstehenden Flüssigkeiten der saponinhaltigen Gläschen ab und lasse sie auf frische serumfreie Blutkörperchen vom Kaninchen wirken, um zu sehen, ob die Flüssigkeit saponinhaltig ist. Es erfolgt binnen 2 Minuten totale Hämolyse. Ich habe also einen Ueberschuß von Saponin angewandt. Da auch im Versuch 8 2 ccm Saponin längst nicht von den Hirnzellen aufgenommen werden, so werde ich bei den nächsten Versuchen nur 1 ccm Saponin verwenden.

Die beiden saponinhaltigen Bodensätze bringe ich auf ein Filter und wasche sie solange, bis das Filtrat auf rote Blutkörperchen vom Kaninchen nicht mehr hämolytisch wirkt.

Ich ordne meinen Versuch nun so an, daß ich erst den sauren Auszug vornehme.

Ich setze zu dem Filterrückstand 10 ccm NaCl + 3 ccm $\frac{n}{100}$ HCl. Das Filtrat wirkt schwach sauer auf blaues Lackmuspapier. Ich neutralisiere es mit $\frac{n}{100}$ NaOH und lasse das Filtrat auf rote Blutkörperchen wirken. Es tritt keine Hämolyse auf.

Den noch sauer reagierenden Filterrückstand versetze ich zunächst solange mit $\frac{n}{100}$ NaOH, bis das Filtrat neutral ist. Um ein alkalisches Filtrat zu bekommen, muß ich im ganzen noch 7½ ccm NaOH hinzusetzen zum Filterrückstand. Ich mache also hier die schon erwähnte Beobachtung, daß ich, um ein alkalisches Filtrat zu erhalten, verhältnismäßig viel Alkali brauche.

Das alkalische, dann neutralisierte Filtrat unseres Filterrückstandes wirkt auf rote Kaninchen-Blutkörperchen sofort hämolytisch.

Mit dem Kontrollgläschen verfahre ich ebenso, erziele natürlich keine Hämolyse.

Ergebnis: Auch bei durch Formalin gehärteten Hirnzellen ist saponinhaltiger Bodensatz voluminöser als der saponinfreie. Das verankerte Saponin ist nicht durch HCl, wohl aber durch Alkali den Zellen zu entziehen.

Versuch 6.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 8 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagenzgläschen mit je 5 ccm dieses Gehirnbreies auf.

Zu Glas I u. II setze ich 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ 9 „ „ „ + 1 ccm der 1 %igen Saponin-Lösung.

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen.

Die überstehenden Flüssigkeiten von III, IV, V wirken auf frische rohe Rinderblutkörperchen nicht hämolytisch, sind also nicht saponinhaltig! Die ganze Menge des Saponins muß also in den Zellen verankert sein.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze von Glas III, IV, V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 1 ccm H $\frac{n}{100}$ HCl hinzu. Das Filtrat reagiert sauer; neutralisiert mit 1 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH wirkt es auf frisches Rinderblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 10 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH. Das schwach alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 5 Tropfen $\frac{n}{100}$ HCl, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch. Der Kontrollversuch ergibt beides Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 5.

Bei der schwachen Konzentration unserer Säure und Base haben wir es bei den Filtraten mit großen Mengen von Flüssigkeit zu tun. Damit sie dem Blute isotonisch sind, setze ich ihnen in allen Versuchen von jetzt ab 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu.

Versuch 7.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 10 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagenzgläschen mit je 5 ccm dieses Zellbreies auf.

Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ „ + 1 ccm Saponin-Lösung „Roche“.

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz des saponinhaltigen Gläschen ist doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen.

Die überstehenden Flüssigkeiten von III, IV, V wirken auf frische rote Rinderblutkörperchen nicht hämolytisch, sind also nicht saponinhaltig.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze von Glas III, IV, V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 1 ccm $\frac{n}{100}$ HCl hinzu. Das Filtrat reagiert deshalb sauer! Neutralisiert mit 1ccm $\frac{n}{100}$ NaOH, wirkt es auf frisches Rinderblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 10 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH. Das schwach alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 5 Tropfen $\frac{n}{100}$ HCl, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 5 u. 6.

Versuch 8.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 14 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagenzgläschen mit je 5 ccm dieses Zellbreies auf.
Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ + 1 ccm 1%ige Saponin-Lösung „Roche".

Nach 12 Stunden: der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen.

Die überstehenden Flüssigkeiten von III, IV, V wirken auf frische rote Rinderblutkörperchen nicht hämolytisch.

Saurer Auszug. Die gesammelten Bodensätze von Glas III, IV, V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 1 ccm $\frac{n}{100}$ HCl hinzu. Das Filtrat reagiert sauer. Neu-

tralisiert mit 1 ccm $\frac{n}{100}$ Na OH wirkt es auf frisches Rinderblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm Na Cl + 10 ccm $\frac{n}{100}$ Na OH. Das schwach alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 5 Tropfen $\frac{n}{100}$ HCl, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 5, 6 und 7. Auch die durch Formalin gehärteten Hirnzellen werden bei Saponinzusatz voluminöser und verankern dabei das Saponin so fest, daß es weder durch Waschen mit Kochsalzlösung noch durch angesäuertes Wasser entzogen werden kann, wohl aber nach allen diesen Prozeduren durch alkalische Kochsalzlösung.

In den beiden folgenden Versuchen wollen wir nun sehen, ob die saure Auswaschung unbedingt vorhergehen muß, oder ob der alkalische Auszug allein für sich, ohne sie genügt.

Statt der $\frac{n}{100}$ NaOH und $\frac{n}{100}$ HCl benutze ich die $\frac{n}{4}$ Normallauge und -Säure, um bei den Auszügen mit geringeren Mengen von Flüssigkeit zu arbeiten.

Versuch 9.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 14 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagenzgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies.

Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ + 1 ccm 1%ige Saponin-Lösung „Roche".

Nach 12 Stunden: der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist ca. doppelt so voluminös wie der in den saponinfreien Kontrollgläschen. Ihre überstehende Flüssigkeit ist klarer als die in den Kontrollgläschen, wie wir es schon bei den ersten Versuchen (Nr. 1—4) gesehen und betont haben.

Alkalischer Auszug: Die gesammelten Bodensätze der saponinhaltigen Gläschen (III—V) wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH hinzu. Das Filtrat reagiert alkalisch. Neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl wirkt es nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches menschliches Placentarblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug: Der Vollständigkeit halber schließe ich noch eine saure Auswaschung an. Ich wasche den Filterrückstand und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Das schwach saure Filtrat neutralisiere ich mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HlCa OH, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches menschliches Placentarblut wirkt es nicht hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Mit Alkali kann man das in gehärteten menschlichen Hirnzellen verankerte Sapindus-Saponin ausziehen, auch ohne vorhergehende Auswaschung mit Säure, die hinterher angeschlossen natürlich auch negativ ist.

Versuch 10.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 3 Wochen unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle

5 Reagenzgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies, nachdem dieser von Formalin durch Waschen völlig frei gemacht worden ist. Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ „ 1 je 1 ccm Sapindus-Saponin-Lösung „Roche".

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz des saponinhaltigen Gläschen ist zirka doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen. Die überstehende Flüssigkeit ist etwas trüber, saponinfrei.

Alkalischer Auszug: Die gesammelten Bodensätze der saponinhaltigen Gläschen III—V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH hinzu. Das Filtrat reagiert alkalisch. Neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl und nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung wirkt es auf frisches menschl. Placentarblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug: Ich wasche den Filterrückstand und versetzte ihn mit 5 ccm Na Cl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ HC. Das schwach saure Filtrat neutralisiere ich mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches menschl. Placentarblut wirkt es nicht hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 9.

Fortsetzung des Versuches 10.

Den noch sauren Filtersückstand wasche ich mit phys. NaCl-Lösung, um noch einmal denselben Versuch mit ihm zu machen und zu sehen, ob die Zellen noch verankertes Saponin enthalten.

Zweiter alkal. Auszug: Ich setze also dem gewaschenen, neutral reagierenden Zellbrei zum 2. Male 5 ccm NaCl-Lösung + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH hinzu. Das alkalisch reagierende Filtrat neutralisiere ich mit 3 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, setze 1 Tropfen gesättigte

Chloridlösung hinzu und laß es auf frisches menschl. Placentarblut wirken. Es tritt sofort Hämolyse auf, auch noch beim 2.—4. Filtrat.

Saurer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl-Lösung — 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Das saure Filtrat neutralisiere ich mit 3 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, setze 1 Tropfen der Chloridlösung hinzu. Auf frisches menschliches Placentarblut wirkt es nicht mehr hämolytisch.

Ergebnis: Unser Versuch 10 ist wiederum ein Beweis, daß Alkali das in den Hirnzellen trotz der Formalinhärtung verankerte Saponin freimacht, Säure dagegen auch nach vorhergehender Bearbeitung mit Alkali nicht. Denn wie wir aus der 2. Hälfte des Versuches ersehen, befand sich bei der ersten sauren Auswaschung noch reichlich Saponin in den Hirnzellen.

Wir ersehen also aus den vorstehenden Versuchen Nr. 5—10:

1. daß menschliche Hirnzellen, durch Formalin gehärtet, sich dem Saponin „Roche“ aus Fructus Sapindi Saponariae gegenüber ebenso verhalten, wie frische Kaninchen-Hirnzellen.

Außerdem haben wir dazu erfahren:

2. daß Säure auch mit vorhergehender alkalischer Auswaschung das Saponin nicht aus den Zellen freimachen kann;
3. daß dagegen Alkali auch ohne vorhergehende Auswaschung die Ver-

ankerung des Saponins in den Zellen wohl zu lösen imstande ist.

Die nächsten fünf Versuche führe ich analog den früheren aus, nur daß ich dazu Katzenhirnzellen statt der Hirnzellen vom Mensch und Kaninchen benutzte.

Versuch 11.

Frische, nach Art der Kaninchenhirnzellen hergestellte, aufgeschwemmte Katzenhirnzellen. Ich stelle 6 Reagenzgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies.
Zu Glas I—II tue ich je 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III—VI „ „ „ 9 „ „ + 1 ccm 1% iges Sapindus-Saponin.

Nach 24 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen III—VI ist erheblich voluminöser als der von Glas I—II. Die überstehende Flüssigkeit ist eine Spur klarer als die in der Kontrolle und nicht saponinhaltig.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze der Gläschen III—VI bringe ich auf den Filter, setze 5 ccm physiol. NaCl + 10 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl hinzu. Die Filtration geht außerordentlich schwer und langsam von statten. Das kaum 1 ccm betragende Filtrat ist trübe, flockig. Es verbietet sich von vornherein, damit eine Probe auf Hämolyse anzustellen.

Alkalischer Auszug: Den sauren Zellbrei versetze ich auf einem neuen Filter mit 5 ccm physiol. NaCl-Lösung + 20 Tropfen $\frac{n}{4}$ NaOH. Das Filtrieren dauert wieder einige Stunden. Das Filtrat ist etwas klarer geworden und reagiert stark alkalisch. Ich neutralisiere es mit 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl und lasse es auf frisches menschliches Placentarblut wirken. Es erfolgt jedoch keine Hämolyse.

Ein sofort mit demselben Material und auf dieselbe Art wiederholter Versuch 12 hat dasselbe negative Resultat. Auch beim nächsten Versuch 13 mit Katzenhirnzellen, die 4 Stunden unter Formalin gehalten sind, komme

ich nicht zum Ziel. Auf Zusatz von Kieselgur erhalte ich ebenso wenig ein klares Filtrat. Die hämolytische Probe kann so nicht angestellt werden.

Ergebnis: Diese drei Versuche fallen aus der Reihe. Ich habe sie aber absichtlich nicht unerwähnt lassen wollen. Der negative Ausfall beruht lediglich auf der großen Schwierigkeit, frische Hirnzellen auszuwaschen. Ehe das Auswaschen fertig ist, ist Fäulnis vorhanden; klare Filtrate sind nicht zu bekommen.

Ich gehe darum zu einem anderen Versuch mit unter Formalin gehaltenen Katzenhirnzellen über.

Versuch 14.

Katzenhirnzellen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, ohne Fäulnisgeruch. Ich stelle 6 Reagenzgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies.
Zu Glas I u. II tue ich je 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ „ III u. VI „ „ „ 9 „ — 1 ccm 1%iges Saponin Roche.

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist fast doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen. Die überstehende Flüssigkeit ist etwas trüber, saponinfrei.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze der saponinhaltigen Gläschen III—VI wasche ich ohne Mühe auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl hinzu. Das Filtrat ist klar, reagiert alkalisch. Neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH und nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches menschl. Placentarblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Ich wasche den Filterrückstand und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Das klare, erst schwach alkalische Filtrat wirkt nach seiner Neutralisation und nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chlorid-

lösung auf frisches Placentarblut sofort hämolytisch.

Denselben Versuch wiederhole ich nachstehend, nur in einer anderen Reihenfolge der Auszüge.

Versuch 15.

Katzenhirnzellen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, ohne Fäulnisgeruch.

Der alkalische Auszug ergibt sofort Hämolyse von frischen menschlichen Placentarblutkörperchen, der folgende saure Auszug dagegen nicht.

Diese Versuchsreihe bringt uns:

1. den Beweis für meine früher gemachte Angabe, daß man beim Arbeiten mit frischen Zellen auf große, oftmals unüberwindliche technische Schwierigkeiten stoßen kann.

Ferner sehen wir:

2. daß sich durch Formalin gehärtete Katzenhirnzellen unserem Sapindus-Saponin „La Roche" gegenüber ebenso verhalten wie gehärtete Hirnzellen vom Kaninchen und Menschen, und
3. daß sich die Verankerung des Saponins in den Zellen nur durch Einwirkung von Alkali lösen läßt.

Die nächsten Versuche, bei denen ich wieder Kaninchen-Hirnzellen benutze, dienen nur zur Bestätigung von bereits gefundenen Resultaten.

Versuch 16.

Kaninchenhirnzellen, blutfrei, 8 Tage unter 100 ccm physiol. NaCl-Lösung + 1 ccm Toluol gehalten. Zellbrei mehrfach gewaschen, enthält noch etwas Toluol.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei — 10 ccm NaCl
„ III—V: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin „Roche".

Nach 18 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist zwar nicht voluminöser, aber das Toluol hat noch eine dicke Scheibe von Zellen mit nach oben gerissen, die ich durch Alkohol zum Absetzen bringe.

Nach weiteren 3 Stunden: In allen Gläschen ist die oben befindliche Flüssigkeit klar, der Bodensatz von Glas III—V fast doppelt so voluminös wie der von I u. II. Ich wasche ihn mit NaCl auf dem Filter; Filtrat nicht saponinhaltig.

Saurer Auszug: Dann versetze ich ihn mit 5 ccm NaCl- + 8 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat klar, sauer reagierend. Ich neutralisiere es mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, setze 1 Tropfen Chloridlösung hinzu. Auf frisches Meerschweinchenblut wirkt es nicht hämolytisch.

Alkal. Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 16 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat klar, alkalisch. Nach Neutralisation mit 2 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Meerschweinchenblut sofort hämolytisch. Die Kontrollversuche ergeben keine Hämolyse.

Versuch 17.

Kaninchenhirnzellen, blutfrei, 8 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten.
Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ III—V: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Bodensatz von II doppelt so voluminös wie von I. Darüber befindliche Flüssigkeit saponinfrei.

Der alkalische Auszug von III—V ergibt sofort Hämolyse von frischem Meerschweinchenblut, der darauf folgende saure Auszug dagegen nicht.

Ergebnis: Diese beiden Versuche zeigen uns nebenbei noch, daß unter Toluolwasser gehaltene Kaninchen-Hirnzellen sich dem Sa-

pindus-Saponin „La Roche“ gegenüber ebenso verhalten wie dieselben Zellen mit Formalin gehärtet.

Verschiedene andere, den vorhergehenden durchaus analog angestellte Versuche mit frischen Kaninchen-Hirnzellen mißlingen wieder, wie ich hier kurz erwähnen will. Die Filtration des erst alkalisierten und dann angesäuerten Zellbreies ist ebenso erschwert wie die der in umgekehrter Reihenfolge behandelten Zellen. Die Filtrate bleiben trübe und sind zu hämolytischen Proben nicht zu gebrauchen.

Betrachten wir nun einmal die bisher vorgeführten Versuche auf den Ursprung des Zellenmaterials, so sehen wir, daß, abgesehen von weißen Blutkörperchen der Thymus und von Eiterzellen des Menschen, Hirnzellen sowohl vom Menschen wie vom Kaninchen und der Katze das Sapindus-Saponin „La Roche“ verankern. Berücksichtigen wir außerdem noch die Tatsache, daß unser Präparat rote Blutkörperchen von verschiedenen Lebewesen zur Hämolyse bringt, so können wir schließen, daß unser Saponin auch nach dem Wiedergewinnen nicht artspezifisch wirkt. Die Verankerung ist also ebenfalls keine artspezifische.

Weitere Belege für diesen Satz können wir im Folgenden finden.

Kapitel III.

Eigene Versuche mit Sapindus-Saponin an anderen Zellarten.

In fast allen meinen bisherigen Versuchen habe ich das Saponin aus den Früchten der Sapindus Sapo-

naria nur auf Hirnzellen einwirken lassen. Es liegt mir nun ob, das Verhalten von anderen Körperzellen zum Sapindus-Saponin „La Roche“ zu ergründen, d. h. die beiden Fragen zu beantworten: Verankern auch andere Körperzellen das Saponin „La Roche“ und kann man dieses durch Behandlung mit Alkali aus ihnen wieder entfernen?

Der Beantwortung dieser beiden Fragen sollen nun die folgenden Versuche dienen, in denen ich daraufhin Zellen bestimmter Organe prüfe. Welchen Ursprungs diese Organzellen sind, ist, wie wir gezeigt haben, gleichgültig, da unser Saponin ja nicht artspezifisch ist.

1. Beginnen will ich mit einer Zellart, der wir schon einmal im Verlauf der Arbeit begegnet sind.

Im Anfang des II. Kapitels (Versuch 3) sahen wir, daß nach der Einwirkung unseres Saponins auf eine bestimmte Menge von menschlichen Eiterzellen aus einem tuberkulösen Abszeß diese eine vermehrtes Gesamtvolumen aufwiesen, mit anderen Worten, daß sie das Saponin verankern. Daß wir diese Verankerung durch Einwirkung von Alkali lösen können, zeigt uns

Versuch 18 und 19.

Menschliche Eiterkörperchen aus einem tuberkulösen Abszeß, 4 Tage unter Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Eiterzellen + 10 ccm physiol. NaCl-Lösung
„ III—VI: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 ccm 1 %ige Saponin-Lösung.

Nach 12 Stunden: Bodensatz von III—VI doppelt so voluminös wie von I u. II, darüber befindliche Flüssigkeit saponinfrei.

Den Bodensatz von III und IV ziehe ich erst mit Säure, dann mit Alkali aus; den von Glas V und VI erst mit Alkali, dann mit Säure.

Saurer Auszug von Glas III u. IV.

Ich bringe den Bodensatz auf ein Filter, versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Das leicht saure Filtrat neutralisiere ich mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, setze 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung hinzu. Auf rote Blutkörperchen vom Rind wirkt es nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug von Glas III u. IV.

Dem noch sauren Filterrückstand setze ich 5 ccm NaCl-Lösung + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH hinzu. Das alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 2 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, setze 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch, ebenso die folgenden 3 Filtrate.

Der durchaus gleiche, nur in umgekehrter Reihenfolge der Auszüge verlaufende Versuch mit dem Bodensatz von V und VI fiel analog aus.

Ergebnis: Menschliche Eiterzellen verankern das Sapindus-Saponin „La „Roche". Die Verankerung wird durch Einwirkung von Alkali gelöst. Die Verhältnisse liegen also wie bei den Hirnzellen.

2. Nun gehe ich zu Versuchen mit Leberzellen über. Aus ihrer großen Anzahl seien einige wohlgelungene wiedergegeben. Dabei möchte ich gleich erwähnen, daß auch beim Experimentieren mit frischen Zellen dieses Organes mehrfach Mißerfolge zu verzeichnen sind, derselben Art, wie wir sie von den Versuchen mit frischen Hirnzellen kennen; ja ich will gleich vorwegnehmen, daß ich auf technische Schwierigkeiten überall stieß, wo ich mit frischen Zellen, welcher Art sie auch waren, arbeitete.

Versuch 20.

Leberzellen einer frisch sezierten menschlichen Leiche werden in fein verriebenem Zustand mit hypotonischer

NaCl-Lösung versetzt. Nach 12 Stunden hat sich ein graugelber Bodensatz abgesetzt. Die überstehende, rötliche Flüssigkeit wird abgehebert, der die Leberzellen darstellende Bodensatz auf dem Filter gewaschen und so ganz blutfrei gemacht. Aufstellung der Gläser wie bei Hirnzellen.

Glas I u. II: 5 ccm dieser Leberzellen + 10 ccm ClNa
„ III u. IV: 5 „ „ „ + 9 ccm NaCl + 1 ccm Saponin „La Roche".

Nach 24 Stunden: Der Bodensatz von Glas III u. IV fast doppelt so voluminös als der von Glas I u. II. Die überstehende Flüssigkeit ist saponinfrei. Die folgenden Auswaschungen werden analog denen in Versuchen mit Hirnzellen ausgeführt.

Saurer Auszug von Glas III und IV.

Ich bringe den Bodensatz auf ein Filter und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat klar, sauer reagierend. Neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, und nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat klar, alkalisch. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Pferdeblut sofort hämolytisch.

Die Kontrollversuche mit Glas I und II ergeben keine Hämolyse.

Versuch 21.

Leberzellen vom Kaninchen, wie in Versuch 20 hergestellt und blutfrei gemacht, 36 Stunden unter Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Leberzellen + 10 ccm NaCl-Lösung
Glas III—VI: 5 „ „ + 10 „ „ + 1 ccm 1 % iges Saponin „Roche",

Nach 15 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist etwas voluminöser als der in den Kontrollgläschen. Die überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug: Den saponinhaltigen Leberzellenbrei versetze ich auf dem Filter mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Das Filtrat ist klar und reagiert schwach alkalisch. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches menschl. Placentarblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug: Den noch alkalischen Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Das Filtrat ist klar, schwach sauer. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches menschliches Placentarblut nicht hämolytisch.

Die Kontrollversuche ergeben keine Hämolyse. Ein nach der sauren Auswaschung noch folgender zweiter alkalischer Auszug ergibt auch keine Hämolyse mehr.

Versuch 22.

Wie vorher, nur umgekehrte Reihenfolge der Auszüge. Leberzellen vom Kaninchen, 36 Stunden unter Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Leberzellen + 10 ccm NaCl
„ III—VI: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Sapindus-Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen voluminöser als der in den Kontrollgläschen.

Saurer Auszug von III—VI: Keine Hämolyse von frischem Placentarblut.

Alkalischer Auszug von III—VI: Sofortige Hämolyse von frischem Placentarblut durch das freigemachte Saponin.

Versuch 23.

Frische, wie oben beschrieben hergestellte Katzenleberzellen.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ III u. IV: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm. 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Bodensatz von III und IV etwas voluminöser als von I und II. Überstehende Flüssigkeit von III und IV klar, saponinfrei.

Saurer Auszug: Saponinhaltiger Bodensatz auf dem Filter + 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat schwach sauer. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Saurer Filterrückstand + 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch. Nach Neutralisation mit 2 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch. Die Kontrollversuche ergeben keine Hämolyse.

Versuch 24.

Katzenleberzellen, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm NaCl
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ + 2 ccm 1%iges Saponin „Roche".

Alkal. Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Saurer Auszug von II ergibt keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut, ebensowenig die Kontrolle.

Versuch 25. Umkehrung von Versuch 24.

Katzenleberzellen, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm NaCl
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ + 2 ccm 1%iges Saponin „Roche".

Saurer Auszug von II: keine Hämolyse von frischem menschl. Placentarblut.

Alkal. Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Versuch 26.

Kaninchenleberzellen, wie oben beschrieben hergestellt, 24 Stunden unter stark verdünntem Wasserstoffsuperoxyd gehalten und dann gewaschen.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „ + 2 ccm Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Saponinhaltiger Bodensatz viel voluminöser als der saponinfreie.

Saurer Auszug von II: Keine Hämolyse von frischem Pferdeblut.

Alkalischer Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem Pferdeblut.

2. Saurer Auszug von II: Wieder keine Hämolyse.

2. Alkalischer Auszug von II: Noch schwache Hämolyse.

Versuch 27.

Schweineleberzellen, wie oben beschrieben hergestellt, 24 Stunden unter Formalin gehalten.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm NaCl
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ + 2 ccm 1%ges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Saponinhaltiger Bodensatz viel voluminöser als der saponinfreie.

Saurer Auszug von II: Keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Alkalischer Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem menschl. Placentarblut.

Kontrolle: Keine Hämolyse.

Versuch 28. Umgekehrt wie Versuch 27.

Schweineleberzellen, wie oben hergestellt, 24 Stunden unter Formalin gehalten.

Alkalischer Auszug: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Saurer Auszug: Keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 29.

Leberzellen vom Meerschweinchen, wie oben beschrieben hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, gewaschen und in zwei Portionen aufgestellt.

Glas I: 10 ccm Leberzellen + 15 ccm NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Die Zellen bilden in beiden Gläsern einen kompakten Bodensatz, in II fast doppelt so voluminös wie in I. Überstehende Flüssigkeiten beiderseits klar, von II saponinfrei.

Saurer Auszug: Den saponinhaltigen Bodensatz versetze ich mit 10 ccm NaCl + 8 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat klar, sauer. Nach Neutralisation mit 2 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 10 ccm NaCl + 20 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat klar, alkalisch; nach Neutralisation mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Die Zellen aus dem Kontrollgläschen I benutze ich zu einem neuen, diesem analogen Versuch mit umgekehrter Reihenfolge der Auswaschungen. Zu Glas I setze ich noch 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche" hinzu, also:

Versuch 30.

10 ccm Leberzellen vom Meerschweinchen + 15 ccm + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Zellen liegen am Boden, überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei. Der Prozeß der alkalischen Extraction der Leberzellen macht sofort das Saponin frei; das Filtrat wirkt auf frisches Menschenblut hämolytisch. Das Filtrat des sauren Auszuges bewirkt keine Hämolyse.

Auf Grund dieser Versuche mit Leberzellen können wir nun behaupten,

1. daß Leberzellen eine gewisse Menge vom Sapindus-Saponin „La Roche“ verankern;
2. daß diese Verankerung mit einer deutlichen Volumen-Vermehrung einhergeht;
3. daß das Saponin durch Einwirkung von Alkali den Leberzellen zu entziehen ist, durch Einwirkung von Salzsäure jedoch nicht.

Kurz gesagt: Leberzellen verhalten sich dem Sapindus-Saponin „La Roche“ gegenüber wie Hirnzellen.

3. Der Ausfall dieser Versuche bestärkt mich in meinem Vorsatz, noch andere Organzellen, und zwar zunächst Nierenzellen, zu analogen Versuchen heranzuziehen. Dabei bemerke ich, daß ich auch dabei stets Kontrollversuche machte, auch wenn ich sie im Nachstehenden nicht erwähne.

Versuch 31.

Frische, zerriebene, wie Leberzellen hergestellte Nierenzellen von der Katze, in 2 Portionen angesetzt.
Glas I: 3 ccm Zellbrei + 8 ccm NaCl.
„ II: 3 „ „ + 7 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin „Roche“.

Nach 24 Stunden: In beiden Gläsern haben sich die Zellen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt; der saponinhaltige ist sichtlich voluminöser.

Alkal. Auszug von Glas II.

Da die überstehende Flüssigkeit etwas saponinhaltig ist, wasche ich den Bodensatz auf dem Filter, bis das Filtrat keine hämolytische Wirkung mehr aufweist. Dann erst versetze ich

mit 5 ccm NaCl + 8 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, mit 2 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl neutralisiert, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch.

Der saure Auszug ergibt keine Hämolyse.

4. Ich gehe zu Versuchen an Milzzellen über.

Versuch 32.

Wie vorher blutfrei gemachte und hergestellte Nierenzellen vom Kaninchen, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten. Umkehrung des vorhergehenden Versuches. Erst der saure Auszug, bei dem keine Hämolyse von frischem Katzenblut auftritt, dann der alkalische Auszug, der das Saponin aus den Zellen frei macht.

Versuch 33.

Frische, blutfreie Milzzellenaufschwemmung vom Schwein, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm NaCl
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Zellen bilden in beiden Gläsern kompakten Bodensatz, in II fast doppelt so voluminös wie in I. Überstehende Flüssigkeit von II saponinfrei.

Saurer Auszug von Bodensatz II mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer, mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH neutralisiert, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 2 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesätt. Natriumchloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Versuch 34.

Blutfreie, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehaltene Milzzellen vom Schwein, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm NaCl
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Zellen bilden in beiden Gläsern kompakten Bodensatz, in II sichtlich voluminöser.

Beim alkalischen Auszug erfolgt sofort Hämolyse von frischem Menschenblut, beim sauren dagegen nicht.

5. Ich lasse Versuche an Dünndarmzellen folgen.

Versuch 35.

Frische Dünndarmzellen von der Katze, mit einem stumpfen Messer von der gut gereinigten Darmschleimhaut abgeschabt, wie die früheren Zellen hergestellt, und in 6 Gläsern aufgestellt.

Glas I u. II: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ III—VI: 5 „ „ + 8 „ „ + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: In allen Gläschen haben sich die Zellen zu Boden gesetzt, in III—VI ein bedeutend größeres Volumen einnehmend als in I und II. Hier die überstehenden Flüssigkeiten saponinhaltig.

Saurer Auszug der exakt gewaschenen Bodensätze von III—VI mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Ich bekomme damit im Filtrat das Saponin frei, das auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch wirkt.

Der daran angeschlossene zweite saure Auszug ergibt wieder keine Hämolyse; dagegen tritt beim folgenden zweiten alkalischen Auszug noch schwache aber immerhin deutliche Hämolyse auf.

Versuch 36.

Dünndarmzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 24 Stunden unter 3,6 %igem Formalin gehalten und in zwei Portionen aufgestellt. 10 ccm Zellbrei + 7 ccm NaCl + 3 ccm 1 %iges Saponin „Roche"; die andere Potrion als Kontrolle.

Nach 24 Stunden bilden die Zellen nur im Saponin-Gläschen einen kompakten Bodensatz. Überstehende Flüssigkeit enthält etwas überschüssiges Saponin.

In dem alkalischen Auszug des exakt gewaschenen Bodensatzes erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Kaninchenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 37.

6. Zum Schluß möge ein Versuch mit Plazentarzellen folgen.

Placentarzellen vom Meerschweinchen, wie vorher vom Blut befreit und hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten und nur in einer Portion aufgestellt: 10 ccm Zellbrei + 8 ccm NaCl + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden bilden die Zellen einen kompakten Bodensatz. Darüber befindliche Flüssigkeit saponinhaltig.

Der alkalische Auszug des exakt gewaschenen Bodensatzes liefert ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt. Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Der daran angeschlossene zweite alkalische Auszug ergibt dagegen nochmals schwache Hämolyse.

Durch diese Versuche glaube ich den Beweis erbracht zu haben, daß auch Nieren-, Milz-, Dünndarm- und Plazentarzellen das Saponin „La Roche" verankern können, und daß man diese Substanz durch

Einwirkung von Alkali ihnen wieder entziehen kann.

In ihrem Verhalten dem Saponin gegenüber gleichen sie also ganz den Hirn- und Leberzellen.

Somit möchte ich die Frage, wie sich das Saponin der Früchte von Sapindus Körperzellen gegenüber verhält, so beantworten:

Das Saponin „La Roche" geht wohl mit allen, oder jedenfalls den verschiedensten Körperzellen eine in Wasser unlösliche Verbindung ein, wodurch deren Volumen vermehrt wird. Diese Verankerung kann entgegengesetzt wie bei den Agglutininen nicht durch Einwirkung von Säure gelöst werden, sondern nur durch Einwirkung von Alkali.

Kapitel IV.

Eigene Versuche über das Verhalten des Saponin „Sthamer" aus der Quillajarinde zu Körperzellen.

Die Quillajarinde enthält nach Versuchen Koberts, welche in die Jahre 1884 und 1885 fallen, zwei Saponine, die er als Quillajasäure und Sapotoxin bezeichnete. Beide sind in Wasser löslich und bei Einspritzung ins Blut sehr giftig. Die tödliche Dose für die Quillajasäure beträgt 1 mg pro Kilo Tier und die des Sapotoxins sogar nur ½ mg pro Kilo. Das Sapindus-Sapotoxin ist im Vergleich damit viel weniger giftig. Das bekannteste Präparat aus der Quillajarinde ist das Saponin der Firma Sthamer in Hamburg. Es ist im Gegensatz zu dem schneeweißen Sapindus-Saponin ein gelblich-braunes Pulver, welches

72 % reine Saponine enthält. Die übrigen 18 % kommen auf Feuchtigkeit, Zucker und Aschenbestandteile.

Dieses Saponin Sthamer benutze ich in einer 1 %igen Lösung, frisch hergestellt und neutralisiert, bei den folgenden Versuchen. An und für sich reagiert das Präparat sauer. Betreffs dieser Versuche sowie auch der mit anderen Saponinen angestellten will ich vorbemerken, daß ich mich bei ihnen von denselben Gesichtspunkten leiten ließ, wie bei den mit Saponin „Roche" ausgeführten. Sie lehnen sich darum dem Verfahren und der Reihenfolge nach ganz an diese an. Obwohl die Quillajasäure ein saures Saponin ist, gehört sie doch nicht in die Gruppe der beim Ansäuern ausfallenden Saponine. Eine Änderung der Versuchstechnik gegenüber den Versuchen mit Sapindus-Saponin war also nicht nötig. Die Grenze der hämolytischen Kraft des Saponin Sthamer auf 2 %iges Rinderblut liegt, wie ich festgestellt habe, bei meiner Versuchstechnik bei einer Konzentration von 1 : 10 000, d. h. bei einer Verdünnung, die ich in meinen Versuchen mit Zellenauszügen nicht erreiche. Folglich mußten meine Auszüge sich stets nach der hämolytischen Methode prüfen lassen.

Versuch 1.

Frische, wie vorher beschrieben und blutfrei gemachte Hirnzellen vom Menschen, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 10 „ 1 % iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden: Die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II fast doppelt so voluminös ist wie in Glas I. Seine überstehende Flüssigkeit ist stark saponinhaltig.

Saurer Auszug von Glas II.

Bodensatz auf dem Filter solange gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr saponinhaltig ist. Dann versetze ich ihn mit 5 ccm

NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Der Versuch mit den frischen Zellen war wie der auf S. 30 wieder sehr schwierig. Die Kontrolle ergab keine Hämolyse.

Versuch 2.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, aber 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: je 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden bilden die Zellen in beiden Gläsern einen kompakten Bodensatz, der in II bedeutend voluminöser ist als in I, und dessen überstehende Flüssigkeit nicht saponinhaltig ist.

Alkali-Auszug von Bodensatz II mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen. $\frac{n}{4}$ Na ON. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug des noch alkalischen Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 10 Tropfen $\frac{n}{4}$ N HC. ergibt keine Hämolyse von frischem Menschenblut.

Der daran angeschlossene zweite alkalische Auszug ergibt nochmals Hämolyse, macht also noch Saponin aus den Zellen frei.

Die Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 3.

Hirnzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 8 Tage unter Formalin gehalten, in 2 Portionen aufgestellt. Wie Versuch 2.

Glas I: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 % ges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden Bodensatz von II fast doppelt so voluminös wie der von I.

Der alkalische Auszug von Bodensatz II ergibt sofort Hämolyse von frischem Pferdeblut.

Der daran angeschlossene saure Auszug ergibt keine Hämolyse.

Kontrolle keine Hämolyse.

Ergebnis: Hirnzellen verhalten sich dem Saponin Sthamer gegenüber wie dem Saponin „La Roche" gegenüber; auch dieses Präparat wirkt nicht artspezifisch.

Versuch 4.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 24 Stunden unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 4 Gläschen aufgestellt.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ III u. IV: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 % iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden ist der Bodensatz von Glas III und IV fast doppelt so voluminös wie der von Glas I und II, die überstehende Flüssigkeit von Glas III und IV saponinfrei.

Saurer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat al-

kalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chlorid auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch. Saponin ist also im Filtrat enthalten. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 5.

Leberzellen vom neugeborenen Meerschweinchen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter Formalin gehalten, in einer Portion aufgestellt.
7 ccm Zellbrei + 8 ccm NaCl + 2 ccm Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden bilden die Zellen einen kompakten Bodensatz. Darüberstehende Flüssigkeit schwach saponinhaltig.

Alkalischer Auszug des exakt gewaschenen Bodensatzes mit 5 ccm NaCl + 14 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH ergibt sofort Hämolyse von frischem menschlichen Placentarblut.

Saurer Auszug des noch alkalischen Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 20 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl ergibt keine Hämolyse. Der darauffolgende zweite alkalische Auszug ergibt nochmals Hämolyse.
Kontrolle keine Hämolyse.

Versuch 6.

Milzzellen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igen Formalin gehalten in 4 Gläschen aufgestellt.

Glas I u. II: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ III u. IV: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm *1* %iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas III und IV voluminöser als von Glas I und II. Überstehende Flüssigkeit in Glas III und IV saponinfrei.

Der alkalische Auszug liefert ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse, die Kontrolle ebenfalls keine Hämolyse.

Versuch 7.

Dünndarmschleimhautzellen von der Katze, wie schon vorher beschrieben hergestellt, 24 Stunden unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden Bodensatz von Glas II bedeutend voluminöser. Die darüberstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 8.

Umgekehrt wie vorher, also Dünndarmschleimhautzellen der Katze, Kontrolle vom vorigen Versuch, mit 1 ccm Saponin Sthamer versetzt. Saurer Auszug ergibt keine Hämolyse. Alkalischer Auszug ergibt sofort Hämolyse.

Versuch 9.

Placentarzellen vom Meerschweinchen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ + 1 ccm 1%iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden ist der Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von Glas I.

Der saure Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Kaninchenblut nicht hämolytisch wirkt.

Der alkalische Auszug des noch sauren Filterrückstandes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Kaninchenblut sofort hämolytisch wirkt, somit also saponinhaltig ist.

Das Filtrat des zweiten sauren Auszuges ergibt wieder keine Hämolyse; das des zweiten alkalischen hingegen nochmals Hämolyse. Die Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Ergebnis: Diese Versuchsreihe lehrt, daß das Gemisch der Quillajarinden-Saponine von Sthamer mit verschiedenartigen Körperzellen, wie Zellen der Leber, Niere, Milz, Plazenta und der Dünndarmschleimhaut, eine feste Verbindung eingeht, die durch Einwirkung von Alkali zerlegt wird. Unser Präparat gleicht also darin ganz dem Saponin der Sapindusnüsse.

Kapitel V.

Eigene Versuche über die Einwirkung des Saponalbins auf isolierte Organzellen.

Der Name Saponalbin bezeichnet das Saponin aus der sogenannten Saponaria alba. Diese Wurzel stammt tatsächlich von zwei ganz verschiedenen Pflanzen, nämlich von der Gypsophila paniculata und von der Gypsophila Arostii. Die Firma Merck bringt seit Jahrzehnten ein schneeweißes, fast aschefreies Saponinum purissimum „Merck" in den Handel, das aus Gypsophila paniculata dargestellt zu sein scheint und das ich daher in Nachstehendem als Saponalbin bezeichnet habe. Es enthält über 90 % reines Saponin. Die Giftigkeit ist nicht unbeträchtlich, sie steht aber der der Quillajasäure nach.

Die Grenze der hämolytischen Kraft des Saponalbins auf 2 %iges Rinderblut habe ich bei der von mir angewandten Methodik als bei einer Konzentration von 1 : 20 000 liegend gefunden.

In den folgenden Versuchen, die ich nach bekanntem Muster anstelle, gebrauche ich das Präparat in einer 1 %igen Lösung.

Versuch 1.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher beschrieben hergestellt, 6 Tage unter Formalin gehalten in 2 Gläsern aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II fast doppelt so voluminös ist, wie in Glas I. Die überstehende Flüssigkeit von Glas II ist klar und saponinfrei.

Saurer Auszug: Den Bodensatz von Glas II versetze ich mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch. Filtrat also saponinhaltig. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 2.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von I, seine überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei.

Saurer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer, neutralisiert mit 1 Tropfen

$\frac{n}{4}$ Na OH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch.

Kontrolle keine Hämolyse.

Versuch 3.

Umgekehrt wie vorher, Leberzellen von der Katze, 6 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten.

Das Filtrat des alkalischen Auszuges wirkt auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch, das des folgenden sauren nicht.

Versuch 4.

Nierenzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Durch den alkalischen Auszug erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt. Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 5.

Milzzellen vom Schwein, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II voluminöser als von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Der saure Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch wirkt.

Der alkalische Auszug ergibt ein Filtrat, das auf frisches Menschenblut nach dem Neutralisieren sofort hämolytisch wirkt, also saponinhaltig ist.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 6.

Dünndarmzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl

„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II doppelt so voluminös wie von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das neutralisiert auf frisches Pferdeblut sofort hämolytisch wirkt, somit saponinhaltig ist.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 7.

Umgekehrt wie vorher, d. h. die Kontrollgläschen mit Dünndarmzellen von der Katze, 6 Tage lang unter Formalin gehalten, vom vorigen Versuch werden z. T. mit Saponin versetzt und verarbeitet.

Das Filtrat des sauren Auszuges wirkt bei allen auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch, das des alkalischen bei den mit Saponin versetzten nach dem Neutralisieren sofort hämolytisch, ist damit also saponinhaltig.

Ergebnis: Das Saponinalbin in Form des Saponinum purissimus Merk aus der Gypsophila paniculata verhält sich diversen Körperzellen gegenüber wie die beiden vorherigen Saponinsubstanzen, d. h. es

verbindet sich, selbst wenn die Zellen tagelang unter Formalin aufgehoben worden sind, nach Entfernung dieses Konservierungsmittels mit den gehärteten Zellen. Diese Verbindung ist eine so feste, daß weder viel Wasser noch verdünnte Salzsäure sie zu sprengen vermag; wohl aber hebt verdünnte Natronlauge oder kohlensaures Natrium sie leicht auf und führt das Saponin in aktiver Form wieder in Lösung über.

Kapitel VI.

Eigene Versuche über die Einwirkung der Saponine der Assamteesamen auf isolierte Organzellen.

Der Assamtee, Thea assamica, ist eine Varietät des chinesischen Tees. Er enthält in den Früchten neben reichlichen Mengen von Fett zwei Saponinsubstanzen, welche Assamsäure und Assamin genannt werden. Das von mir benutzte Präparat ist hergestellt aus einer großen Menge von Assamteesamen, welche unser Institut aus den Tropen bezogen hatte. Sehr genaue Untersuchungen darüber sind von Jos. Halberkann gemacht worden, der feststellte, daß unser Präparat zur Hauptmenge aus Assamin besteht. Es ist ein schneeweißes, sehr aschearmes Pulver. Die Grenze seiner hämolytischen Kraft auf frisches Rinderblut liegt nach meinen Versuchen bei einer Konzentration von 1: 10 000. In den Organzellen-Versuchen benutze ich es in einer 1 %igen Lösung.

Versuch 1.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher beschrieben hergestellt, 6 Tage unter Formalin gehalten in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponin.

Nach 24 Stunden: die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II fast doppelt so voluminös ist, wie in Glas I, die überstehende Flüssigkeit von Glas II ist klar und saponinfrei.

Saurer Auszug: Den Bodensatz von Glas II versetze ich mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Kochsalz auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Kochsalzlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch; Filtrat also saponinhaltig.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 2.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 % iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von I, seine überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei.

Saurer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Natriumchloridlösung auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 3.

Umgekehrt wie vorher. Leberzellen von der Katze, 6 Tage lang unter 3,6%igem Formalin gehalten.

Das Filtrat des alkalischen Auszuges wirkt auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch, das des folgenden sauren nicht.

Versuch 4.

Nierenzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl

„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II bedeutend voluminöser als der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit nicht saponinhaltig.

Der alkalische Auszug liefert ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 5.

Milzzellen vom Schwein, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl

„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II voluminöser als von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Der saure Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch wirkt.

Der alkalische Auszug ergibt ein Filtrat, das nach dem Neutralisieren auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt, also saponinhaltig ist.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 6.

Dünndarmzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II doppelt so voluminös wie von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das neutralisiert auf frisches Pferdeblut sofort hämolytisch wirkt, somit saponinhaltig ist.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 7.

Umgekehrt wie vorher, d. h. die Kontrollportionen der Dünndarmzellen von der Katze, 6 Tage lang unter Formalin gehalten, werden z. T. mit Assamin versetzt.

Das Filtrat des sauren Auszuges der mit Assamin versetzten Zellen wirkt auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch, das des alkalischen wirkt nach dem Neutralisieren sofort hämolytisch, ist damit also als saponinhaltig erwiesen.

Ergebnis: Das Assamin, d. h. das Hauptsaponin des Assamtees, verhält sich Körperzellen gegenüber analog den anderen Saponinen, über die ich vorher berichtet habe, d. h. es vergrößert deren Volumen, verankert sich dabei an diese und diese Bindung ist weder durch Waschen

mit neutraler noch mit saurer Kochsalzlösung zerlegbar, wohl aber durch Behandlung mit alkalisch gemachter.

Kapitel VII.

Eigene Versuche über das Verhalten des Senegins zu isolierten Organzellen.

Die Polygala Senega enthält in ihrer Wurzel zwei Saponinsubstanzen, welche als Polygalasäure und Senegin bezeichnet werden. Die Polygalasäure ist in Wasser ohne Alkali kaum löslich. Das Senegin aber wohl. Die ersten pharmakologischen Untersuchungen über das Senegin hat Joseph Atlas im Jahre 1898 angestellt; weitere wird Herr Lorenzen demnächst veröffentlichen. Die tödliche Dose bei Einspritzung ins Venensystem liegt nach ihm 10mal höher als bei dem Sapotoxin, d. h. bei 5 mg pro Kilo Hund.

Das von mir bei den folgenden Versuchen benutzte Senegin ist im hiesigen Institut nach verbesserter Methode hergestellt worden. Seine hämolytische Kraft auf 2 %iges Rinderblut ist beträchtlich; sie liegt bei einer Konzentration von 1:30 000. Meine Lösung ist 1 %ig.

Versuch 1.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher beschrieben hergestellt, 6 Tage unter Formalin gehalten in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Senegin.

Nach 24 Stunden: die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II doppelt so voluminös ist, wie in Glas I, die überstehende Flüssigkeit von Glas II ist klar und saponinfrei.

Saurer Auszug: Den Bodensatz von Glas II versetze ich mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $\frac{n}{4}$ Na OH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $\frac{n}{4}$ HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch, Filtrat also saponinhaltig.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 2.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergegestellt, 6 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Senegin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei.

Durch alkalisches Ausziehen erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle keine Hämolyse.

Versuch 3.

Umgekehrt wie vorher, d. h. Leberzellen von der Katze, 6 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten, die im vorigen Versuche als Kontrolle gedient hatten. Ein Teil dieser Gläser wird mit Senegin versetzt. Das Filtrat des sauren Auszuges wirkt auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch, das neutralisierte Filtrat des folgenden alkalischen Auszugs wirkt sofort hämolytisch.

Versuch 4.

Nierenzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl

„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1%iges Senegin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II bedeutend voluminöser als der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit nicht saponinhaltig.

Durch alkalisches Ausziehen erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Noch weitere Versuche mit Katzendünndarmzellen ergeben stets:

Das Filtrat des alkalischen Auszuges bewirkt nach dem Neutralisieren Hämolyse, das heißt, es ist saponinhaltig, das des sauren nicht.

Ergebnis: Durch diese Versuche mit dem Senegin glaube ich dargelegt zu haben, daß es sich Körperzellen gegenüber ebenso verhält wie die vier vorhergehenden Saponinsubstanzen.

Hauptergebnisse sämtlicher Versuchsreihen.

Überblicken wir nun noch einmal alle hier vorgeführten Versuche, so können wir sagen:

1. Körperzellen recht verschiedener Art, wie Thymusleukocyten, Eiterzellen, Schleimhautzellen des Dünndarms, Milzzellen, Leberzellen, Nierenzellen, Gehirnzellen und Plazentarzellen, verankern eine gewisse Menge der aus der Gruppe der wasserlöslichen Saponinsubstanzen

beliebig herausgegriffenen Glieder, nämlich des Saponin „La Roche", Saponin „Sthamer", Saponalbin, des Assamins aus dem Assamtee und des Senegin so fest, daß sie durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung dem Zellbrei nicht entzogen werden können.

2. Diese Verankerung ist mit einer sehr deutlichen Volumenvermehrung verbunden.

3. Die bei der Verbindung der vegetabilischen Hämagglutinine mit den Körperzellen anwendbare Zerlegung der Verbindung von Zelle und Gift durch verdünnte Salzsäure gelingt hier nicht, da die Saponinsubstanzen sich offenbar nicht analog den Agglutininen verankern, d. h. nicht die Rolle einer Säure den Körperzellen gegenüber spielen, sondern die einer Base. Ihrer chemischen Reaktion nach sind sowohl die vegetabilischen Agglutinine als die meisten Hämolysine, welche ich verwandt habe, durchaus neutrale Stoffe. Wohl aber wird bei diesem Waschen mit salzsäurehaltiger physiologischer Kochsalzlösung der letzte Rest etwa noch vorhandenen nicht verankerten Saponins ausgewaschen, da diese Saponine zumeist in saurem Wasser löslich sind.

4. Behandeln der Zellen nach der sauren Auswaschung mit Alkali macht die Saponine wieder frei. Mit dem so gewonnenen und dann neutralisierten Filtrat kann man typische rasche Saponinwirkung auf rote Blutkörperchen von Tieren und Menschen hervorrufen.

5. Geheimrat Kobert hat auf die Verankerung der Agglutinine und deren Wiederabspaltbarkeit eine Methode des biologischen Nachweises des Rizins und Abrins für gerichtliche Fälle

gegründet und hat in der Tat in einer Reihe von Fällen, wo auf andere Weise das Rizin nicht zu ermitteln war, den Nachweis der Anwesenheit dieses Giftes erbringen können. Es steht zu hoffen, daß die von mir gefundenen Tatsachen für den Nachweis von Saponinsubstanzen sich werden verwenden lassen. So werden z. B. weitere Versuche unseres Institutes mittelst dieser Methode die Verankerung eingespritzter relativ ungiftiger Saponine in den wichtigeren Organen studieren. Daß tatsächlich sich Saponine im Organismus selbst eine Woche lang verankern und erst dann zur Ausscheidung kommen können, dafür erbringen die gleichzeitig hiermit erscheinenden Arbeiten mehrerer Kommilitonen aus unserem Institute den Beweis.

6. Bei der großen Ähnlichkeit zwischen allen Saponinsubstanzen glaube ich nicht zu weit zu gehen, wenn ich annehme, daß die bei unseren fünf Saponinen kennengelernten Eigenschaften auch noch für viele weitere Stoffe derselben Gruppe Geltung haben. Für die Gruppe der in Wasser unlöslichen Saponinsubstanzen ist sogar mit noch größerer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß sie mit Körperzellen feste, unlösliche Verbindungen eingehen, aus denen sie nur durch Einwirkung von Alkali, nicht aber von Säure freigemacht werden können.

7. Ob bei der Verankerung der Saponine an den Zellen das Cholesterin, welches ja mit allen Saponinen sich zu einer ungiftigen Verbindung verbindet, eine Rolle spielt, fragt sich. Darüber werden weitere Versuche unseres Institutes hoffentlich Aufschluß geben.

Zum Schlusse möge es mir gestattet sein, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Kobert für die gütige Überweisung dieser Arbeit und seine liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Albert Schreuder, wurde geboren am 12. März 1889 zu Vietz a. Ostbahn als Sohn des Fabrikdirektors H. Schreuder. Im Jahre 1908 erhielt ich auf dem humanistischen Gymnasium zu Landsberg a. Warthe das Reifezeugnis und begann mich sofort dem medizinischen Studium zu widmen. Die vorklinischen Semester verbrachte ich in Berlin, Marburg, Berlin, um hierselbst die ärztliche Vorprüfung zu bestehen. Nach einem einsemestrigen Aufenthalt in München bezog ich Oktober 1911 die Universität zu Rostock und bestand hier Ende Mai 1913 das medizinische Staatsexamen.